

PERBEDAAN NEUTROPHIL-LYMPHOCYTE RATIO PADA SUBJEK BUKAN PEROKOK, PEROKOK RINGAN DAN PEROKOK SEDANG-BERAT

Galang Bela Nusa¹, Nyoman Suci Widyastiti²

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Merokok merupakan problem kesehatan serius yang menyebabkan angka kesakitan dan kematian yang tinggi. Paparan asap rokok yang berlangsung lama dapat memicu inflamasi pada saluran nafas dan parenkim paru perokok serta mempengaruhi jumlah dan hitung jenis leukosit. *White Blood Cell Count* (WBC) menggambarkan status inflamasi. Neutrofil dan limfosit merupakan bagian terbesar dari leukosit sehingga mampu menggambarkan sebagian besar respon imun tubuh. *Neutrophil-Lymphocyte Ratio* (NLR) dapat menggambarkan status inflamasi pada perokok.

Tujuan : Membuktikan adanya perbedaan NLR antara subjek bukan perokok, perokok ringan dan perokok sedang-berat.

Metode : Penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan belah lintang dengan subjek penelitian sebanyak 36 orang yang dibagi menjadi tiga kelompok menurut klasifikasi perokok Sitepoe, yaitu kelompok subjek bukan perokok, perokok ringan dan perokok sedang berat. NLR didapat dengan membandingkan jumlah neutrofil absolut dengan jumlah limfosit absolut. Uji statistik menggunakan uji *one way Anova* dan uji Post Hoc Bonferroni.

Hasil : Rerata NLR pada kelompok subjek bukan perokok sebesar $2,42 \pm 0,51$, kelompok subjek perokok ringan sebesar $3,01 \pm 1,29$ dan kelompok subjek perokok sedang-berat sebesar $2,02 \pm 0,63$. Uji Post Hoc menunjukkan ada perbedaan antara nilai NLR kelompok subjek perokok ringan dan perokok sedang berat ($p=0,030$) dan tidak ada perbedaan antara nilai NLR kelompok subjek bukan perokok dengan kedua kelompok lainnya ($p=0,348$; $p=0,821$).

Kesimpulan : Terdapat perbedaan antara nilai NLR subjek perokok ringan dan perokok sedang-berat, namun tidak ada perbedaan antara nilai NLR antara subjek bukan perokok dengan perokok ringan maupun perokok sedang-berat.

Kata kunci : Rokok, Inflamasi, NLR

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF NEUTROPHIL-LYMPHOCYTE RATIO BETWEEN NON-SMOKER, LIGHT SMOKER AND MODERATE-TO-HEAVY SMOKER

Background : Smoking is a serious health problem causing high morbidity and mortality. Chronic cigarette smoke exposure may induce inflammation on respiratory tract and lung parenchymal tissue. It affects total leucocyte count and differential count components. White Blood Cell Count (WBC) is a basic but sensitive way to describe inflammatory status. Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) as a development of WBC may describe the inflammatory status among smoker well.

Aim : To analyze the difference of NLR value between non-smoker subject, light smoker subject and moderate-to-heavy smoker.

Methods : Analytical and descriptive study with cross sectional design on 36 subjects classified into three groups according to Sitepoe classification of smoker; non-smoker, light smoker and moderate-to-heavy smoker respectively. NLR was obtained by comparing absolute neutrophil and absolute lymphocyte count. One way Anova with Bonferroni Post Hoc test were used to study the difference between the mean values in different groups.

Results : The average NLR value of non-smoker subjects was $2,42 \pm 0,51$, while the average NLR value of light smoker subjects and moderate-to-heavy smoker subjects were $3,01 \pm 1,29$ and $2,02 \pm 0,63$ respectively. Bonferroni Post Hoc Test shows difference between NLR value of light smoker subjects and moderate-to-heavy subjects ($p=0,030$) and shows no difference between the NLR value of non-smoker subjects and the other subjects ($p=0,348$; $p=0,821$).

Conclusions : There is a marked difference between the NLR value of light smoker subjects and NLR value of moderate-to-heavy smoker subjects while there is no significant difference between NLR value of non-smoker subjects and NLR value of the other groups.

Keywords : Cigarette, Inflammation, NLR

PENDAHULUAN

Merokok merupakan problem kesehatan yang serius yang menyebabkan angka kesakitan dan angka kematian yang tinggi.¹ Merokok adalah penyebab kematian satu dari sepuluh orang dewasa di seluruh dunia, dengan angka kematian 5.000.000 orang per tahunnya.² Bagaimanapun, merokok adalah masalah kesehatan yang mematikan namun dapat dihindari.

Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2013, 29% orang dewasa di Indonesia merokok setiap harinya. Hal ini masih diperparah dengan peningkatan jumlah perokok sebanyak 32,8 % pada rentang usia dewasa muda.³ Jumlah perokok di Indonesia diperkirakan akan terus meningkat bila tidak ada usaha untuk mengendalikan produksi dan penggunaan tembakau.⁴

Paparan asap rokok yang berlangsung lama dapat memicu inflamasi pada saluran napas dan parenkim paru perokok.⁵ Onset merokok yang lebih awal akan mempengaruhi status inflamasi yang terjadi pada perokok, terlepas dari jumlah paparan asap rokok yang dialami perokok.⁶ Tak hanya itu, paparan asap rokok dapat mengubah fungsi organ dalam, efektivitas sistem imun dan komponen hemostasis pada perokok.¹ Paparan asap rokok mempengaruhi jumlah leukosit total dan komponen differential count yang merupakan tanda terjadinya inflamasi. Hal ini terjadi karena adanya komposisi tertentu pada asap rokok seperti Reactive Oxygen Species (ROS) dan fenol-rich glycoprotein yang memberi stimulus secara langsung pada makrofag, memicu produksi sitokin pro-inflamasi seperti interleukin 6 (IL-6),

interleukin 1 (IL-1), tumor necrosis factor alfa (TNF- α) dan C-reactive protein (CRP), baik pada paparan akut maupun kronik.^{7,8} Paparan asap rokok menyebabkan peningkatan pelepasan sitokin pro-inflamasi oleh sel epitel, yang kemudian mempengaruhi pertumbuhan, diferensiasi dan aktivasi leukosit. Hal tersebut menyebabkan inflamasi dan leukositosis menjadi hal yang lazim ditemui pada perokok. Neutrofilia terjadi pada perokok karena konstituen nikotin pada asap rokok menstimulasi neutrofil untuk memproduksi IL-8 yang merupakan kemoatraktan dan aktivator neutrofil.⁹ Sedangkan limfositosis berkaitan dengan kerusakan sel kronik yang terjadi akibat paparan asap rokok yang terus menerus.

Keterkaitan antara paparan asap rokok dengan parameter leukosit membuat hitung jenis leukosit atau *White Blood Cell Count* (WBC) menjadi parameter yang praktis sebagai indikator status inflamasi akibat paparan asap rokok. *Neutrophil-Lymphocyte Ratio* (NLR) merupakan salah satu penerapan dari WBC yang berguna sebagai petanda biologis pada penilaian status inflamasi, infeksi, penilaian pre-operatif dan post-operatif, penentuan prognosis penyakit kardiovaskular dan keganasan.¹⁰⁻¹² *Neutrophil Lymphocyte Ratio* menggambarkan perbedaan jumlah antara neutrofil dan limfosit pada darah perifer pada saat proses inflamasi berlangsung. Saat inflamasi, neutrofil dalam darah dapat meningkat empat kali hingga lima kali jumlah normal, sedangkan jumlah limfosit cenderung konstan karena adanya daur ulang yang terus menerus oleh jaringan limfoid, limfe dan darah. Perbedaan persebaran sel saat inflamasi inilah yang menjadi dasar penggunaan NLR.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan belah lintang. Penelitian ini dilakukan di lingkungan Universitas Diponegoro Semarang. Pengambilan spesimen darah, hitung jenis dan penghitungan nilai NLR dilakukan di salah satu laboratorium klinik swasta di Semarang. Subjek penelitian adalah mahasiswa Universitas Diponegoro yang bukan perokok, perokok ringan dan perokok sedang-berat dalam rentang usia 18-25 tahun. Subjek penelitian dibagi menjadi tiga kelompok, yakni kelompok subjek bukan perokok, perokok ringan dan perokok sedang-berat.

Spesimen darah diambil dari subjek dan digunakan untuk mendapatkan data jumlah neutrofil absolut dan jumlah limfosit absolut dari subjek penelitian sehingga peneliti dapat menghitung NLR dengan membandingkan kedua parameter tersebut.

Pada data nilai NLR dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk. Uji statistik yang digunakan untuk melihat perbedaan nilai NLR antar kelompok subjek adalah uji *One Way Anova* dan uji Post Hoc Bonferroni.

HASIL

Pada penelitian didapatkan rerata NLR pada kelompok perokok ringan sebesar $3,01 \pm 1,29$ lebih tinggi dibandingkan kelompok subjek bukan perokok dengan rerata $2,42 \pm 0,51$. Rerata nilai NLR paling rendah justru didapatkan pada kelompok subjek perokok sedang-berat dengan nilai $2,02 \pm 0,63$.

Tabel 1. Rerata Neutrofil Absolute

Kelompok Subjek	Rerata Neutrofil absolut \pm SD (%)	p
Bukan perokok	$67,95 \pm 4,03$	0,541*
Perokok Ringan	$70,53 \pm 6,88$	0,935*
Perokok Sedang-Berat	$63,21 \pm 7,95$	0,146*

*Uji normalitas Shapiro-Wilk bermakna bila $p > 0,05$

Tabel 2. Rerata Limfosit Absolut

Kelompok Subjek	Rerata Limfosit absolut \pm SD (%)	p
Bukan perokok	$28,83 \pm 4,13$	0,943*
Perokok Ringan	$26,05 \pm 6,97$	0,953*
Perokok Sedang-Berat	$33,48 \pm 7,74$	0,094*

*Uji normalitas Shapiro-Wilk bermakna bila $p > 0,05$

Tabel 3. Rerata Nilai NLR

Kelompok Subjek	Rerata Nilai NLR \pm SD (%)	p
Bukan perokok	$2,42 \pm 0,51$	0,526*
Perokok Ringan	$3,01 \pm 1,29$	0,064*
Perokok Sedang-Berat	$2,02 \pm 0,63$	0,377*

*Uji normalitas Shapiro-Wilk bermakna bila $p > 0,05$

Uji one way Anova dari rerata nilai NLR menunjukkan bahwa paling tidak terdapat perbedaan nilai NLR yang bermakna pada dua kelompok ($p=0,034$). Pada uji Bonferroni didapatkan adanya perbedaan bermakna antara nilai NLR kelompok perokok ringan dengan perokok sedang-berat ($p=0,030$), sementara pada kelompok subjek bukan perokok dan kelompok subjek perokok, baik perokok ringan maupun perokok sedang-berat, tidak didapatkan perbedaan nilai NLR yang bermakna ($p=0,348$; $p=0,821$).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai NLR tertinggi ada pada kelompok perokok ringan, sedangkan nilai NLR terendah justru didapatkan pada kelompok perokok sedang-berat. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara nilai NLR kelompok subjek bukan perokok dengan kelompok subjek perokok ringan ($p=0,348$). Begitu pula pada uji beda antara kelompok subjek bukan perokok dan kelompok subjek perokok sedang-berat, tidak ada perbedaan yang signifikan ($p=0,821$). Hanya didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok subjek perokok ringan dan kelompok subjek perokok sedang-berat ($p=0,030$).

Rerata nilai NLR pada subjek bukan perokok lebih rendah dibandingkan subjek perokok ringan, namun berdasarkan uji statistik yang dilakukan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara keduanya. Hal ini menunjukkan bahwa pada pajanan asap rokok dan nilai NLR tetap terdapat sebuah dose-dependent relationship yang berarti nilai NLR akan semakin meningkat pada pajanan asap rokok yang lebih banyak. Perbedaan yang tidak bermakna pada uji statistik menunjukkan bahwa tingkat inflamasi pada kelompok subjek bukan perokok hampir sama dengan tingkat inflamasi pada kelompok subjek perokok ringan. Tingkat inflamasi yang sama pada kedua kelompok tersebut mungkin diakibatkan adanya pajanan sidestream smoke pada subjek bukan perokok, yang membuat mereka menjadi perokok pasif dengan kemungkinan mengalami inflamasi yang sama tingginya dengan subjek perokok. Partikel pada sidestream smoke memiliki ukuran dua kali lebih kecil dibandingkan mainstream smoke sehingga pada jumlah yang sama, konstituen-konstituen sidestream smoke lebih banyak dan lebih mudah terhirup dibandingkan mainstream smoke.¹³ Peningkatan nilai NLR pada subjek bukan perokok disebabkan karena pada pajanan sidestream smoke terdapat komponen organik carbonyl compound seperti acrolein, methacrolein dan crotonaldehyde yang memicu pelepasan IL-8 yang selanjutnya berkontribusi pada peningkatan kemotaksis dan aktivasi dari neutrofil.^{14,15} Paparan asap rokok mengaktivasi makrofag dan jalur pensinyalan NF- κ B yang meregulasi pembentukan GM-CSF pada makrofag. GM-CSF memiliki peranan penting terhadap peningkatan jumlah neutrofil absolut karena GM-CSF memicu proliferasi dan diferensiasi dari progenitor hematopoietik menjadi neutrophil dan makrofag serta berperan aktif sebagai faktor kemotaksis neutrofil.^{16,17} Hal ini juga dapat menjelaskan mengapa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata nilai NLR kelompok subjek bukan perokok dan kelompok subjek perokok sedang-berat.

Rerata nilai NLR yang paling rendah didapatkan pada kelompok subjek perokok sedang-berat. Hal ini mungkin disebabkan oleh perubahan pada jumlah limfosit absolut dan penggunaan rokok putih yang lebih dominan pada kelompok subjek perokok sedang-berat. Rokok putih memiliki kadar nikotin, tar dan karbonmonoksida yang lebih rendah dibandingkan rokok kretek.¹⁸ Hal senada dikemukakan oleh Malson J.L. bahwa rokok kretek (clove cigarette) memiliki kandungan nikotin, tar dan karbonmonoksida lebih banyak dibandingkan rokok konvensional.¹⁹ Kandungan nikotin yang tinggi pada rokok kretek dapat menekan respon proliferasi limfosit, namun sebaliknya pada kadar yang rendah justru dapat meningkatkan respon proliferasi limfosit pada darah perifer.²⁰ Peningkatan respon proliferasi limfosit inilah yang membuat nilai NLR menjadi lebih rendah. Pada perokok lazim terjadi limfositosis yang disebabkan oleh produksi RANTES (regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted; CCL5) terpicu-nikotin. Nikotin akan mengaktifasi jalur pensinyalan NF- κ B dan RFLAT-1 (RANTES factor of late-activated T lymphocytes-1), yang kemudian meningkatkan ekspresi RFLAT-1 dan RANTES mRNA. Nikotin meningkatkan ekspresi gen RANTES pada sel T dan memicunya untuk mensekresi lebih banyak protein RANTES pada pajanan nikotin selanjutnya. Aktivitas mobilisasi RANTES menuju sel T dan aktivitas kemotaksis RANTES menyebabkan limfositosis pada perokok.^{20,21} Peningkatan jumlah limfosit secara relatif ini menyebabkan penurunan pada nilai NLR.

SIMPULAN DAN SARAN

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai NLR subjek bukan perokok dan subjek perokok ringan. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai NLR subjek bukan perokok dan subjek perokok sedang berat. Perbedaan yang bermakna hanya didapatkan antara nilai NLR subjek perokok ringan dan subjek perokok sedang berat. Peneliti menyarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan faktor-faktor pro-inflamatorik selain pajanan asap rokok.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dr.dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes, Sp.PK, Dr. dr. Banundari Rachmawati, Sp.PK(K), dr. Intarniati Nur Rochmah, Sp.KF serta pihak-pihak lain yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Taiwo O, Olufemi A, Olusoji A. Evaluation of Haemorheological Parameters in Cigarette Smokers in Western Nigeria By Cigarette Smokers in Western Nigeria. *Greener J Med Sci*. 2012;2(6):146–51.
2. Islam M, Amin M, Rahman M, Akhter D. Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) in Male Adult Smokers. *Dinajpur Med Coll*. 2013;6(2):180–4.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Nasional 2007. Jakarta; 2011.
4. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. InfoDATIN : Hari Tanpa Tembakau Sedunia. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2013.
5. Lee J, Taneja V, Vassallo R. Cigarette Smoking and Inflammation. *J Dent Res* [Internet]. 2012;91(2):142–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3261116/>
6. Planas A, Clara A, Marrugat J, Pou J-M, Gasol A, de Moner A, et al. Age at Onset of Smoking is an Independent Risk Factor in Peripheral Artery Disease Development. *J Vasc Surg*. 2002;35(3):506–9.
7. Yunitari NME. Korelasi antara Jumlah Leukosit Total, Neutrofil, Limfosit dan Monosit dengan Aktivitas Superoxide Dismutase (SOD) Serum pada Perokok Berat. *Media Medica Muda*. 2013.
8. Frohlich M, Sund M, Lowel H, Imhof A, Hoffmeister A, Koenig W. Independent Association of Various Smoking Characteristics with Markers of Systemic Inflammation in Men. *Eur Heart J*. 2003;24:1365–72.
9. Shenwai M, Aundhakar N. Effect of Cigarette Smoking on Various Hematological Parameters in Young Male Smokers. *Indian J Basic Appl Med Res*. 2012;5(2):386–92.
10. Wang M, Lutfiyya M, Anderson G, West B. Antioxidant Activity of Noni Juice in Heavy Smoker. *Chem Cent J*. 2009;3(13):2.
11. Coskun BN, Oksuz MF, Ermurat S, Tufan AN, Orucoglu N, Dogan A, et al. Neutrophil lymphocyte ratio can be a valuable marker in defining disease activity in patients who have started anti-tumor necrosis factor (TNF) drugs for ankylosing spondylitis. *Eur J Rheumatol* [Internet]. 2014;1(3):101–5. Available from: <http://www.eurjrheumatol.org/eng/makale/2702/198/Full-Text>
12. Forget P, Dinant V, De Kock M. Is the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio more correlated than C-reactive protein with postoperative complications after major abdominal surgery? *PeerJ* [Internet]. 2015;3:e713. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4304854&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
13. John G, Kohse K, Orasche J, Reda A, Schnelle-Kreis J, Zimmermann R, et al. The composition of cigarette smoke determines inflammatory cell recruitment to the lung in COPD mouse models. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2014;126(3):207–21. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3906955&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

14. Moretto N, Facchinetti F, Southworth T, Civelli M, Singh D, Patacchini R. alpha,beta-Unsaturated aldehydes contained in cigarette smoke elicit IL-8 release in pulmonary cells through mitogen-activated protein kinases. *AM J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009;296(5):839–48.
15. Moretto N, Bertolini S, Iadicicco C, Marchini G, Kaur M, Volpi G, et al. Cigarette smoke and its component acrolein augment IL-8/CXCL8 mRNA stability via p38 MAPK/MK2 signaling in human pulmonary cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2012;303(10):L929–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22983351>
16. Gomez-Cambronero J, Horn J, Paul CC, Baumann MA. Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Is a Chemoattractant Cytokine for Human Neutrophils: Involvement of the Ribosomal p70 S6 Kinase Signaling Pathway. *J Immunol* [Internet]. 2003;171(12):6846–55. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/171/12/6846.full>
17. Vlahos R, Bozinovski S, Hamilton JA, Anderson GP. Therapeutic potential of treating chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by neutralising granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF). *Pharmacol Ther*. England; 2006 Oct;112(1):106–15.
18. Susanna D, Hartono. B, Fauzan H. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. *J Ekol Kesehat*. 2003;7(2):38–41.
19. Malson JL, Lee EM, Murty R, Moolchan ET, Pickworth WB. Clove cigarette smoking: biochemical, physiological, and subjective effects. *Pharmacol Biochem Behav*. United States; 2003 Feb;74(3):739–45.
20. Mellon RD, Bayer BM. The effects of morphine, nicotine and epibatidine on lymphocyte activity and hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1999;288(2):635–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9918569>
21. Taneja V, Vassallo R, Lee J, Taneja V, Vassallo R. Cigarette smoking and inflammation: Cellular and molecular mechanisms. *J Dent Res* [Internet]. 2012;91(2):142–9. Available from: <http://ovidsp.ovid.com?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed10&AN=21876032&nhttp://library.newcastle.edu.au:4550/resserv?sid=OVID:embase&id=pmi:21876032&id=10.1177/0022034511421200&issn=00220345&isbn=&volume=91&issue=2&spage=142&pages=142-149&date=20>